

Аспирантские и докторантские чтения

Клинические дисциплины

ID: 2013-03-1276-A-1748

Оригинальная статья

Лакомова Д.Ю., Морозов Д.А., Морозова О.Л.

Методы ранней диагностики повреждения почек у детей с пузырно-мочеточниковым рефлюксом

ГБОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского Минздрава России, кафедра хирургии детского возраста

Lakomova D.Yu., Morozov D.A., Morozova O.L.

Methods for early diagnostics of renal damage in children with vesicoureteral reflux

Saratov State Medical University, Saratov, Russia

Резюме

Проведено сопоставление результатов стандартного комплекса обследования с изменениями содержания в моче биологических маркеров воспаления (MCP-1), фиброгенеза (TGF- β 1), ангиогенеза (VEGF) повреждения структур нефрона (коллаген IV, α -GST, π -GST) у 140 детей с ПМР до и через 6 месяцев после лечения. Получено, что нефросклеротический процесс имеет место и при малых степенях пузырно-мочеточникового рефлюкса. Даже при отсутствии нарушений структурно-функционального состояния почек по данным традиционных методов обследования, имелись достоверные изменения уровней биологических маркеров воспаления, фибро- и ангиогенеза, а также повреждения основных элементов нефрона. Результаты проведенного исследования позволяют рекомендовать расчет «индекса раннего повреждения почек» в педиатрической практике с целью своевременного контроля за состоянием почечной паренхимы почек у детей на фоне данной патологии.

Ключевые слова: пузырно-мочеточниковый рефлюкс, дети, нефросклероз

Abstract

The results of standard methods of diagnostics were compared with the changes of urine concentrations of biological markers of inflammation (MCP-1), fibrogenesis (TGF- β 1), angiogenesis (VEGF), renal parenchymal damage (collagen IV, α -GST, π -GST) in 140 children with VUR before and 6 months after treatment. It was found that nephrosclerosis begins on the early stage of vesicoureteral reflux. Standard methods of diagnostics showed no kidney dysfunction while the levels of biological markers of inflammation, fibro- and angiogenesis and renal parenchymal damage were changed. Estimation of "early kidney damage index" could be included in pediatric practice for the control of urinary tract dysfunction in children with VUR.

Key words: vesicoureteral reflux (VUR), children, nephrosclerosis

Введение

Пузырно-мочеточниковый рефлюкс (ПМР) наблюдается у 1-2% детской популяции [1], а частота его у детей с инфекцией мочевыводящей системы достигает 70% [2,3]. Есть сведения, что рубцевание почечной паренхимы возможно при однократном ретроградном забросе инфицированной мочи [4]. Более половины пациентов, которым выполняется реимплантация мочеточников, при данной патологии имеют признаки рефлюксной нефропатии [5]. Рефлюкс при этих операциях ликвидируется у 96-98% детей, однако после устранения рефлюкса риск склерозирования почки сохраняется [6].

Нефросклероз на фоне ПМР формируется у 30-60% больных [7] и приводит к развитию терминальной стадии хронической почечной недостаточности у 25-60% пациентов [8; 9; 10].

За последнее десятилетие накоплено немало работ по определению микроальбуминурии в качестве раннего маркера рефлюксной нефропатии [10,11]. В настоящее время особое внимание уделяется изучению роли трансформирующего фактора роста β -1 (TGF- β 1) и моноцитарного хемоаттрактантного протеина-1 (MCP-1) в инициации и прогрессировании нефросклероза [12]. Однако нет сведений по исследованию данных маркеров в моче у детей с различной степенью ПМР на этапах его консервативного, эндоскопического и оперативного лечения.

Единичные работы, посвященные определению уровня васкулоэндотелиального фактора роста (VEGF) в моче у детей с рефлюксной нефропатией [13], отражают изменения данного маркера без учёта длительности существования рефлюкса и метода его лечения. Трансмембранные ферменты α - и π -глутатион-S-трансфераза (α -GST, π -GST) и коллаген IV типа являются основными маркерами повреждения нефрона [14]. Однако нет информации по исследованию этих факторов в моче у пациентов до и после лечения различной степени ПМР.

В литературе отсутствуют работы, отражающие сравнение результатов традиционных методов диагностики рефлюксной нефропатии и показателей биологических маркеров повреждения почек у пациентов с ПМР в динамике течения патологии. Не разработаны объективные и чувствительные диагностические и прогностические критерии раннего повреждения почечной паренхимы у детей на фоне рефлюкса.

Цель: изучить механизмы инициации и прогрессирования нефросклероза у детей с ПМР на основании исследования биологических маркеров воспаления (MCP-1), фиброгенеза (TGF- β 1), повреждения структур нефрона (коллаген IV типа, α -GST, π -GST), ангиогенеза (VEGF) в моче в динамике течения патологии.

Материал и методы

Для уточнения механизмов развития нефросклероза и выявления роли различных факторов в его поддержании у 80 детей с ПМР в динамике течения патологии (до и через 6 месяцев после лечения) было выполнено количественное определение в моче MCP-1, TGF- β 1, VEGF, коллаген IV типа, α -GST, π -GST. Все пациенты в соответствии со степенью рефлюкса и методом его коррекции были разделены на три группы. 25 пациентам (41 почка) со II-III степенями рефлюкса проводилось консервативное лечение (первая группа), 39 пациентам (55 почек) с III-V степенями рефлюкса – эндоскопическая коррекция (вторая группа), 16 пациентам (23 почки) с III-IV степенями рефлюкса – реимплантация мочеточников (третья группа).

В 1 группе II степень рефлюкса диагностирована у 22 пациентов (90%), III – у 3 пациентов (10%). Односторонний ПМР наблюдался у 15 пациентов (60%). Преобладал левосторонний рефлюкс – 72%. Комплекс консервативных мероприятий по лечению ПМР заключался в антибактериальной терапии с учётом чувствительности возбудителя к антибактериальным препаратам в период обострения пиелонефрита с последующим длительным приёмом уроантисептиков в возрастных дозировках. Эффективность лечения через 6 месяцев составила 82%.

Во 2 группе III степень рефлюкса диагностирована у 23 пациентов (59%). IV степень – у 15 пациентов с ПМР (38%), V степень – у одного пациента (3%). Односторонний ПМР выявлен у 22 пациентов (56%). Эндоскопическая коррекция рефлюкса путём эндоимплантации биодегенерируемых препаратов (коллаген, уродекс) выполнена у 20 пациентов (51%) на 30 мочеточниках (55%). Данные препараты применялись у пациентов с вторичным характером рефлюкса, а также у детей младшей возрастной группы (до двух лет). Эндоскопическая коррекция рефлюкса путём введения биостабильного препарата ДАМ+ выполнена у 19 пациентов (48%) с ПМР на 25 мочеточниках (45%). Препарат ДАМ+ применялся у пациентов старшей возрастной группы (старше 2 лет), а также в случае рецидива рефлюкса после коррекции биодегенерируемым препаратом. Эндоскопическая коррекция у этих пациентов выполнялась с использованием стандартной методики введения импланта: suburethral transurethral injection (STING) и модифицированных методик: double hydrodistention implantation technique (double HIT) и implantation periurethral transpositional (IPT). Эффективность лечения составила 65%.

В 3 группе III степень рефлюкса диагностирована у 2 пациентов (13%) в 2 почки (9%). Реимплантация мочеточников при III степени рефлюкса выполнялась после неэффективной двукратной эндоимплантации биостабильным препаратом, либо после неэффективной трёхкратной эндоимплантации, если при первом этапе имплантировался биодегенерируемый препарат. IV степень рефлюкса диагностирована у 14 пациентов (87%) с ПМР в 21 почку (91%). Односторонний и двусторонний ПМР наблюдался с одинаковой частотой. Преобладал левосторонний рефлюкс – 67%. Реимплантации мочеточников были представлены преимущественно открытыми оперативными вмешательствами - 91% (21 мочеточник). Пневмозикоскопическая реимплантация выполнена на 2 мочеточниках. Операции выполнялись различными доступами: внутривезикулярным (операция Козна), внепузырным (операция Грегуара) и комбинированным (операция Лидбеттера-Политано). Операция Козна выполнена на 17 мочеточниках (73%). Операция Грегуара произведена на 2 мочеточниках (10%). Операция Лидбеттера-Политано осуществлена на 4 мочеточниках (17%). Эффективность данного вида лечения составила 97%.

Средний возраст пациентов составил 4,5 $\pm$ 3,6 года. Группу сравнения составили 20 детей с малой хирургической патологией (пупочной или паховой грыжей) в предоперационном периоде стратифицированных по возрасту и полу.

Определение в моче различных биомаркёров проводили методом твёрдофазного иммуноферментного анализа с помощью тест-систем «Вектор БЕСТ» (Россия), «Invitrogen», «ARGUTUS MEDICAL» и «Bender Medsystems» (Австрия).

Результаты

Для оценки результатов исследования биологических маркёров повреждения почек в исследуемых группах, нами определены уровни данных факторов в моче у детей, не имеющих патологии мочевыделительной системы. Полученные данные были приняты за норму (табл. 1).

У пациентов первой группы до начала консервативного лечения уровень TGF- β 1, как основного индуктора развития нефросклероза, был выше, чем в группе сравнения ($p < 0,01$) (табл. 1). Содержание MCP-1, отражающего воспалительный процесс в мочевыводящих путях, не превышало нормальных значений ($p > 0,08$). Концентрация в моче VEGF – ведущего фактора ангиогенеза, была повышена ($p < 0,0001$). Среди маркёров повреждения основных структур нефрона было отмечено увеличение количества π -GST ($p < 0,002$) и коллагена IV типа ($p < 0,002$) в моче относительно группы сравнения (табл. 1).

Таблица 1. Сравнительный анализ биологических маркёров повреждения почечной паренхимы в моче у пациентов разных групп до лечения (n=80)

Показатель	Группа сравнения (n=20)			Группа 1 (n=25)				Группа 2 (n=39)					Группа 3 (n=16)					
	M	LQ	UQ	M	LQ	UQ	p	M	LQ	UQ	p	p*	M	LQ	UQ	p	p*	p**
TGF- β 1, нг/мл	371,4	328,2	418,8	406,8	378	438	0,01	407	379,2	423	0,03	0,84	423,6	392,4	435	0,21	0,53	0,53
MCP-1, пг/мл	43,75	23,75	63,35	36,4	14,4	56,5	0,08	47,85	22,7	93,08	0,25	0,05	215,6	165,4	373,0	0,002	0,002	0,002
VEGF, пг/мл	56,1	42,6	80,9	411,3	310,1	573,5	0,0001	573,8	335,4	1368	0,0001	0,05	2660	2003	5017	0,002	0,002	0,002
α -GST, мкг/л	0,9	0,65	1,1	0,85	0,51	1,14	0,69	0,67	0,38	1,13	0,17	0,39	0,81	0,57	1,13	0,88	0,81	0,39
π -GST, мкг/л	0,48	0,30	0,68	2,1	1,30	2,76	0,002	4,24	2,76	11,62	0,0001	0,001	35,47	21,7	49,69	0,002	0,002	0,002
Коллаген IV, нг/мл	50,25	59,3	38,6	78,9	68,0	88,9	0,002	160,8	110,6	210,6	0,0001	0,0002	252,5	234,9	293,7	0,002	0,002	0,002

Примечание: M – медиана; LQ – нижний квартиль; UQ – верхний квартиль; p – критерий достоверности различий по отношению к показателям группы сравнения; p* – критерий достоверности различий по отношению к показателям первой группы; p** – критерий достоверности различий по отношению к показателям второй группы.

Таблица 2. Сравнительный анализ биологических маркёров повреждения почечной паренхимы в моче у пациентов разных групп после лечения (n=80)

Показатель	Группа сравнения (n=20)			Группа 1 (n=25)				Группа 2 (n=39)					Группа 3 (n=16)					
	M	LQ	UQ	M	LQ	UQ	p	M	LQ	UQ	p	p*	M	LQ	UQ	p	p*	p**
TGF-β1, нг/мл	371,4	328,2	418,8	657	606	798	0,0009	729	606	795	0,0009	0,005	801	711	894	0,0009	0,005	0,01
MCP-1, пг/мл	43,75	23,75	63,35	55,4	50,9	78,1	0,01	173,6	137,8	228	0,0001	0,0001	394,7	362,5	469,8	0,0004	0,0004	0,0004
VEGF, пг/мл	56,1	42,6	80,9	49,7	34,1	67,9	0,6	164	129,7	225,4	0,0001	0,0001	801	711	894	0,0004	0,0004	0,0004
α-GST, мкг/л	0,9	0,65	1,1	0,87	1,03	0,71	0,68	0,76	0,37	1,09	0,15	0,19	0,88	0,63	1,11	0,79	0,81	0,65
π-GST, мкг/л	0,48	0,30	0,68	0,62	0,1	1,22	0,184	1,22	0,62	2,7	0,0008	0,005	2,33	0,67	4,28	0,0008	0,01	0,717
КоллагенIV, нг/мл	50,25	59,3	38,6	40,2	32,2	55,2	0,15	99,4	88,3	134,7	0,0008	0,0001	185,2	173,6	202,4	0,0004	0,004	0,004

Примечание: M – медиана; LQ – нижний квартиль; UQ – верхний квартиль; p – критерий достоверности различий по отношению к показателям группы сравнения; p* – критерий достоверности различий по отношению к показателям первой группы; p** – критерий достоверности различий по отношению к показателям второй группы

Через 6 месяцев после лечения у всех детей этой группы наблюдали увеличение уровня в моче TGF-β1 ($p<0,0009$) (табл. 2). Содержание в моче MCP-1 было повышено ($p<0,01$). Концентрация VEGF уменьшилась в 8 раз относительно данных до лечения и достоверно не отличалась от нормальных показателей. Уровни π-GST и коллагена IV типа снизились до нормы (табл. 2).

Таким образом, установленные изменения биомаркёров фиброгенеза, воспаления, ангиогенеза, повреждения структур нефрона в моче в динамике течения заболевания свидетельствовали о наличии умеренного воспалительного процесса в мочевыводящих путях и повреждения почек на фоне малой степени ПМР.

У 39 пациентов этой группы до лечения уровень в моче TGF-β1 был выше, чем в группе сравнения ($p<0,03$), однако достоверно не отличался от показателей первой группы (табл. 1). Содержание MCP-1 не превышало нормальных значений. Концентрация VEGF была в 10 раз выше по отношению к группе сравнения ($p<0,0001$). Отмечено, что количество π-GST было в 9 раз выше нормы ($p<0,0001$), а коллагена IV типа – в три раза ($p<0,0001$), причём уровни π-GST и коллагена IV типа были значительно выше (табл. 1), чем в первой группе ($p<0,001$ и $p<0,0002$ соответственно).

Через 6 месяцев после лечения отмечено увеличение в два раза содержания TGF-β1 в моче по отношению к показателям группы сравнения ($p<0,0009$) и первой группы ($p<0,005$) (табл. 2). Уровень MCP-1 был выше, чем в группе сравнения ($p<0,0001$) и группе детей после консервативного лечения ($p<0,0001$). Концентрация VEGF снизилась в три раза относительно показателей до лечения, но оставалась достоверно выше нормы ($p<0,0001$). Количество π-GST уменьшилось в три раза, коллагена IV типа – в два раза относительно показателей до лечения, однако сохранялось высоким по отношению к группе сравнения ($p<0,0008$) (табл. 2).

Таким образом, у пациентов с III-V степенями ПМР в динамике течения патологии изменения маркёров повреждения почечной паренхимы имели более выраженный и стойкий характер, чем в группе больных с консервативным лечением рефлюкса, и свидетельствовали о наличии латентного течения хронического воспаления в мочевыводящих путях и продолжающемся повреждении почечной паренхимы вне зависимости от успешности ликвидации ПМР.

У детей этой группы до лечения уровень в моче TGF-β1 не превышал нормальных показателей (табл. 1). Содержание MCP-1 было увеличено относительно группы сравнения, первой и второй групп ($p<0,002$). Концентрация VEGF была в 50 раз выше нормы ($p<0,002$), в 4 раза выше, чем в первой группе ($p<0,002$), и в 6 раз выше, чем во второй ($p<0,002$). Отмечено, что уровни π-GST и коллагена IV типа в моче были значительно увеличены по отношению к группе сравнения ($p<0,002$), первой и второй группам до лечения ($p<0,002$ и $p<0,0002$, соответственно) (табл. 1).

Через 6 месяцев после лечения зарегистрировано увеличение в два раза содержания TGF-β1 в моче по отношению к группе сравнения ($p<0,0009$) (табл. 2). Количество MCP-1 значительно повысилось относительно значений всех групп ($p<0,0004$). Концентрация VEGF уменьшилась по сравнению с показателями до лечения в 6 раз, но оставалась выше нормы ($p<0,0004$). Уровень π-GST снизился в 15 раз и коллагена IV типа в два раза относительно их содержания до лечения, но был достоверно выше, чем в группе сравнения ($p<0,0008$) (табл. 2). Достоверно значимых изменений уровня α-GST у пациентов всех групп в динамике течения патологии диагностировано не было.

Обсуждение

Таким образом, максимальные уровни биомаркёров фиброгенеза, воспаления, ангиогенеза, повреждения нефрона в моче были зафиксированы у пациентов, которым выполнялась реимплантация мочеточников, причём большинство из этих детей ранее перенесли неоднократные манипуляции эндоскопической коррекции ПМР. Несмотря на ликвидацию рефлюкса, у детей этой группы показатели данных маркёров в моче оставались повышенными, что указывало на выраженные и, возможно, необратимые изменения в почках.

Для оценки диагностической эффективности исследования биологических маркёров повреждения основных элементов нефрона, воспаления, фиброгенеза, ангиогенеза в моче был проведен ROC-анализ с построением характеристических кривых при разных точках разделения значений показателей.

При проведении ROC-анализа было установлено, что наибольшей чувствительностью и специфичностью для регистрации раннего повреждения почечной паренхимы у детей с ПМР обладали VEGF, а также π-GST и коллаген IV типа. Для всех указанных показателей площадь под характеристической кривой (AUC) составила от 0,9 до 1,0, что свидетельствовало о высокой чувствительности и специфичности для мониторингирования течения нефросклеротического процесса.

Заключение

Полученные в ходе работы результаты дали возможность выявить следующие закономерности формирования и прогрессирования нефросклероза у детей с ПМР:

- Уровень маркера воспаления MCP-1 повышается с увеличением степени и длительности существования ПМР, отражая интенсивность лимфо-моноцитарной инфильтрации почечной паренхимы. Несмотря на проводимое лечение вне зависимости от метода, повышенная концентрация MCP-1 в моче сохраняется на протяжении 6 месяцев. Содержание маркера фиброгенеза TGF-β1 возрастает в дебюте заболевания, потенцируя нефросклероз, и сохраняется повышенным в динамике заболевания.
- С увеличением степени ПМР уровень маркеров ангиогенеза VEGF и повреждения основных структур нефронов (π-GST, коллаген IV типа) возрастает, возвращаясь к нормальным значениям после консервативного лечения, и остаётся повышенным после эндоскопического и оперативного лечения независимо от успешности ликвидации рефлюкса, что свидетельствует о выраженном и стойком повреждении почечной паренхимы.
- Повышение уровней биомаркёров в моче позволяет диагностировать ранние этапы формирования нефросклероза и латентную фазу хронического воспалительного процесса в мочевыводящих путях.
- Наиболее высокую чувствительность и специфичность для определения степени повреждения паренхимы почек у детей в динамике течения патологии имеет исследование в моче основных маркёров повреждения нефрона – коллагена IV типа и π-GST, а также факторов ангиогенеза – VEGF.

Полученные данные могут быть включены в алгоритм обследования пациентов с ПМР для объективной оценки тяжести повреждения почечной паренхимы с помощью неинвазивных методов, что чрезвычайно важно для педиатрической практики.

Исследование выполнено при поддержке Гранта Президента МД-303.2010.7.

Литература

1. Lackgren, G. Endoscopic treatment of vesicoureteral reflux: Current status. / G. Lackgren // Indian J. Urol. - 2009. - Vol. 25. - P. 34-39.
2. Jahnukainen, T. Mechanisms of renal damage owing to infection / T. Jahnukainen, M. Chen, G. Celsi // Pediatr. Nephrol. - 2005. - Vol. 162 (3). - P. 245-253.
3. Bundy, D.G. Vesicoureteral Reflux / D.G. Bundy, J.R. Serwint // Pediatr. Rev. - 2007. - Vol. 28. - P. 6-8.
4. Wheeler, D. Antibiotics and surgery for vesicoureteric reflux: a meta-analysis of randomised controlled trials / D. Wheeler, D. Vimalachandra, E. M. Hodson et al. // Archives of Disease in Childhood. - 2003. - Vol. 88 (8). - P. 688-694.
5. Basem, A. Surgical intervention in children with vesicoureteric reflux: are we intervening too late? / A. Basem, K.A. Goyal, P.A. Dickson // Pediatr. Surg. Int. - 2010. - Vol. 26. - P. 729-731.
6. Mene, P. Mechanisms of repair after kidney injury / P. Mene, R. Polei, F.J. Festuccia // Nephrology – 2003. - Vol. 16, №2 – P. 186-195.
7. Зоркин, С.Н. ПМР у детей / С.Н. Зоркин // Медицинский и учебно-методический журнал. - 2002. - №7. - С. 3-12.
8. Гельдт, В.Г. Диагностика пороков мочевыделительной системы у новорожденных и грудных детей / В.Г. Гельдт, Г.И. Кузовлева // Педиатрия. - 2006. - №1. - С. 87-94.
9. Рябцева, А.В. Исторические аспекты изучения пузырно-мочеточникового рефлюкса у детей / А.В. Рябцева, Д.К. Фомин, С.П. Яцык и соавт. // Педиатрическая фармакология. - 2008. - Т 5 (6). - С. 67-75.
10. Вялкова, А.А. Хроническая болезнь почек в педиатрической нефрологии / А.А. Вялкова // Материалы Международной школы и научно-практической конференции по детской нефрологии «Актуальные проблемы детской нефрологии». Оренбург - 2010. - С. 63-75.
11. Махачев, Б.М. Клиническое значение определения белков в моче для ранней диагностики рефлюкс-нефропатии у детей / Б.М. Махачев, А.А. Корсунский, И.М. Османов и соавт. // «Нефрология и диализ». - 2005. - Т. 7, №1. - С. 41-45.
12. Бобкова, И.Н. Определение экскреции с мочой моноцитарного хемотаксического протеина-1 (MCP-1) и трансформирующего фактора роста-b1 (TGF-b1) - неинвазивный метод оценки тубулоинтерстициального фиброза при хроническом гломерулонефрите / И.Н. Бобкова, Н.В. Чеботарёва, Л.В. Козловская и соавт. // Нефрология. - 2006. - Т. 4, № 10. - С. 49-55.
13. Konda, R. Urinary excretion of vascular endothelial growth factor is increased in children with reflux nephropathy / R. Konda, H. Sato, K. Sakai, et al. // Nephron. Clin. Pract. - 2004. - Vol. 98 (3). - P. 73-78.
14. Maharaj, A.S.R. Roles for vegf in the adult / A.S.R. Maharaj, D'Amore P.A. // Microvasc. Res. - 2007. - 74. - P. 100-113.